UEBER DIE

KOCH'SCHEN REINCULTUREN

UND DIE

CHOLERABACILLEN.

ERINNERUNGEN AUS DEM CHOLERA-CURSUS
IM K. GESUNDHEITSAMTE ZU BERLIN.

FÜR ÄRZTE UND GEBILDETE LAIEN

VON

Dr. ALBERT JOHNE,

PROFESSOR DER PATHOLOGISCHEN ANATOMIE UND ALLGEMEINEN PATHOLOGIE
AN DER K. THIERARZNEISCHULE ZU DRESDEN.



LEIPZIG,
VERLAG VON F. C. W. VOGEL.
1885.

SEPARATABDRUCK
aus der Deutschen Zeitschrift f. Thiermedicin und vergleichenden
Pathologie XI. Band.

VORWORT.

Der Wunsch, die Kenntniss des Wesens der Koch'schen Methode der Reinkultur der Bacterien möglichst zu verbreiten, sowie deren Bedeutung für die Ermittlung der pathogenen Mikroorganismen im Allgemeinen, und die Feststellung der Beziehung der Koch'schen Cholerakommabacillen zur Cholera asiatica im Besonderen in ärztlichen und nichtärztlichen Kreisen zur immer allgemeineren Erkenntniss gelangen zu lassen, hat mich veranlasst, vorliegenden Separatabdruck einer in der deutschen Zeitschrift für Thiermedicin (Bd. XI) soeben erschienenen kleinen Arbeit als Brochure im Buchhandel erscheinen zu lassen. Nur von diesem Standpuncte aus bitte ich den Inhalt derselben beurtheilen zu wollen.

Dresden, December 1884.

Johne.

Wie den meisten Lesern dieser Broehure bekannt sein dürfte, finden zur Zeit im K. Gesundheitsamt unter Oberleitung des Herrn Geh. Reg.-Rath Dr. R. Koch bacteriologische Curse statt, welche zunächst den Zweck verfolgen, die von den verschiedenen deutsehen Regierungen hierzu designirten Theilnehmer *mit den im K. Gesundheitsamt üblichen Methoden der bacteriologischen Untersuchungen, besonders der von Koch zuerst zu diesem Zweck empfohlenen Methode der Reincultur auf festem Nährboden bekannt zu machen. Sie sollen hierdurch in den Stand gesetzt werden, in zweifelhaften ersten Fällen möglichst rasch und mit voller Sicherheit die Cholera asiatica durch den Nachweis der dieser nach Koch eigenthümlichen kommaartigen Bacillen diagnosticiren zu können.* Da die hierbei zur Anwendung kommenden Untersuchungsmethoden aber nicht allein für den Nachweis der Cholerabacillen, sondern für den der pathogenen Mikroorganismen überhaupt von der allerhöchsten Wichtigkeit sind, so hatte ich die Ehre, vom königl. sächs. Ministerium gleichfalls zur Theilnahme an einem solchen Cursus nach Berlin entsendet zu werden. Ich glaube, dass es auch für weitere Kreise von hohem Interesse sein dürfte, im Nachfolgenden einen Bericht über den Verlauf eines solehen Cursus zu erhalten, der jeden Leser nicht nur einen Ueberblick über die Methode der sogenannten Reinculturen verschaffen, sondern ihn auch in den Stand setzen soll, so weit es möglich ist, sich ein eigenes Urtheil über jene Agitation gegen Koch's Lehre vom Cholerabacillus zu bilden, die sich in der jüngst vergangenen Zeit genau in derselben Weise bemerkbar macht, wie seinerzeit gegen den von demselben Forscher entdeckten Bacillus der Tubereulose. Jetzt wie damals kann man die Bemerkung machen, dass der Eifer, mit dem gewisse Mikroskopiker bemüht sind, an der neuesten Koeh'schen Entdeckung herumzumäkeln, resp. dieselbe sogar vollständig in ihrer Bedeutung zu negiren, vielfach nicht im Verhältniss zu ihren

bacteriologischen Kenntnissen steht. Dass hierdurch in der medicinischen und nichtmedicinischen Welt eine der Sache nicht förderliche Verwirrung hervorgerufen werden musste, ist nicht zu verwundern. Dies ist für Koch Veranlassung gewesen, in Nr. 45 der Deutschen medicin. Wochenschrift a. c., auf welche ich hiermit verweise, in gewohnter lichtvoller und überzeugender Weise und mit der ihm zu Gebote stehenden, ebenso scharfen wie sachlichen Logik zwei derjenigen Arbeiten kritisch zu beleuchten, welche in dieser Beziehung das meiste Aufsehen erregt haben, nämlich die von Lewis und die von Finkler und Prior. Ich werde Gelegenheit haben, im Nachfolgenden auf diese Polemik etwas näher einzugehen, nachdem ich vorher über den Verlauf des Cursus und die dort ausgeführten Arbeiten berichtet habe.

An dem Cursus, den ich frequentirte und der in der Zeit vom 6. bis 15. November stattfand, nahmen ausser mir noch 13 Herren, Medicinalbeamte aus Mittel- und Norddeutschland und 4 Militärärzte Theil, welche in drei Abtheilungen und in drei verschiedenen Zimmern unter der speciellen Leitung der Herren Stabsärzte DDr. Gaffky, Gärtner, den Herren Assistenzärzten I. Kl. DDr. Plagge und Weisser arbeiteten, während Herr Geh. Reg.-Rath Dr. Koch sich die Oberleitung des Unterrichtes vorbehalten hatte. Die Arbeitszeit war eine durchgehende und dauerte von früh 9 Uhr bis Nachmittags 4 Uhr, zog sich aber vielfach bis gegen 5 Uhr hin.

Ehe ich mich speciell dem, was im Cursus gelehrt und gelernt wurde, zuwende, scheint es mir im Interesse verschiedener, mit diesen Dingen zum Theil wohl weniger bekannten Leser nothwendig, vorher über die sogenannten Reinculturen der Pilze auf festem Nährboden Folgendes vorauszuschicken.

Bereits seit alten Zeiten ist, wenn auch noch unklar, der Gedanke ausgesprochen worden, dass ein Theil der Krankheitserreger belebter Natur seien. Mit der im Jahre 1835 von Bassi und Balsamo gemachten Entdeckung, dass eine als Muscardine bezeichnete, verheerende Krankheit der Seidenraupen durch einen Myceliumpilz Botritis Bassiana) hervorgerufen und verbreitet werde, gewann diese Anschauung zuerst eine reelle Basis. Schon im Jahre 1839 erbrachte dann Schönlein den Nachweis, dass als Ursache des Erbgrindes des Menschen ein später von Remak als Achorion Schönleinii bezeichneter Pilz angesehen werden müsse. Im Jahre 1843 sprach dann Henle zuerst die grundlegende, allgemeine Vermuthung aus, „dass das Contagium eine mit individuellen Leben begabte Materie ist, die sich nach Art der Thiere und Pflanzen reproducirt. durch Assimilation organischer Stoffe vermehrt und parasitisch auf

dem kranken Körper lebt", und dass „der bisher noch ungesehene Leib dieser Parasiten vegetabilischer Natur sei."

Seit dieser Zeit ist die Lehre, dass gewisse Pflanzen- und Thierkrankheiten durch das Eindringen von niedrigen pflanzlichen Lebewesen in den Organismus hervorgerufen würden, durch den Nachweis des constanten Vorkommens niederer Organismen bei einer Reihe von Krankheiten, sogenannten Infectionskrankheiten, sicher bewiesen worden. Als solche Krankheiten sind mit absoluter Sicherheit der Milzbrand, der Rückfalltyphus, die septischen und pyämischen Processe, der Typhus, die Lepra, das Erysipel, die Tuberculose, der Rotz und jedenfalls auch die Cholera asiatica zu bezeichnen, während die Entdeckung pathogener Mikroorganismen bei anderen Krankheiten noch nicht einwandsfrei ist, oder solche überhaupt noch nicht nachgewiesen werden konnten.

Diese Erkenntniss von der parasitären Natur gewisser Krankheiten ist aber ganz unbestritten für deren Verhütung und Heilung von entscheidender Bedeutung, oder wird es noch sicher werden. Denn nur den Feind vermögen wir erfolgreich zu bekämpfen, den wir in seinem ganzen Wesen genau kennen.

Es muss somit als eine Hauptaufgabe der allgemeinen Pathologie und pathologischen Anatomie betrachtet werden, diesen unseren „kleinsten Feinden" beharrlich nachzuspüren und auch bei denjenigen endemischen und epidemischen Krankheiten des menschlichen und thierischen Organismus aufzufinden, bei welchen solche Mikroorganismen bisher noch nicht oder noch nicht mit voller Sicherheit als Krankheitserreger nachgewiesen werden konnten.

So gross und wichtig diese Aufgabe ist, so schwierig ist sie aber auch. Drei Forderungen sind es, welche nach Koch die exacte Forschung an diesen Nachweis stellen muss, wenn er als zweifellos erbracht angesehen werden soll. Einmal müssen sich bestimmte, morphologisch genügend charakterisirte Mikroorganismen in jedem Falle einer gewissen Krankheit in den erkrankten Organen vorfinden. Ferner ist es nöthig, dieselben zu isoliren und ausserhalb des Organismus auf geeigneten Nährmaterialien durch mehrere Generationen, d. h. unter mehrmaligem Uebertragen kleiner Portionen der gewachsenen Pilzcolonie auf einen neuen Nährboden, rein zu züchten. Denn nur hierdurch wird die Gewissheit erlangt, dass der letzten Generation nichts mehr von den Bestandtheilen des kranken Organismus anhaftet, welche vielleicht von diesem in die erste Cultur mit übertragen worden sein konnten. Endlich muss durch die Verimpfung dieser gewonnenen Reinculturen bei Ueberimpfung auf geeignete Versuchsthiere dieselbe Krankheit erzeugt werden, als die war, von welcher die erste Ge-

neration der Pilzcultur abstammte. So hat Koch die Tuberkelbacillen bis zu 22 Monaten in 34 Generationen ausserhalb des Körpers cultivirt und konnte dennoch bei Ueberimpfung der letzten Cultur auf geeignete Versuchsthiere die Tuberculose mit derselben Sicherheit erzeugen, wie bei Verimpfung der ersten Cultur.

Was nun die erste und zweite Bedingung anbelangt, so sind dieselben nicht immer deshalb leicht zu erfüllen, weil sich in dem kranken Organ, namentlich dann, wenn dasselbe mit der Aussenwelt in directer Verbindung steht, wie dies z. B. bei der Haut, den Respirations-, Verdauungs-, Harn- und Geschlechtsorganen der Fall ist, nicht selten verschiedene Arten von Bacterien vorfinden. Hier ist vor Allem die schwierige Aufgabe zu lösen, die einzelnen Formen dieses Pilzgemisches zu isoliren, um dann erst weiter prüfen zu können, welches dieser mikroskopisch kleinen Lebewesen als Krankheitsursache anzusprechen ist. Ja ehe Koch seine Culturmethode auf festem Nährboden erfand, war diese Aufgabe mit Sicherheit überhaupt nicht zu lösen. Der nicht unberechtigte Misscredit, in welchen die ganze Lehre von den pathogenen Pilzen in den letzten Jahren leider gekommen, ist zum grossen Theil der Mangelhaftigkeit der früheren Untersuchungsmethoden zuzuschreiben, welche zu vielfachen Untersuchungsfehlern, zu allerhand Trugschlüssen und unfruchtbaren Hypothesen führte.

Man bediente sich nämlich früher und zum Theil auch jetzt noch (z. B. Pasteur, Zopf, Nägeli u. A.) zu Pilzculturen eines flüssigen Nährsubstrates, z. B. der Bouillon oder anderer geeigneter Nährstofflösungen, in welchen man durch vorheriges und wiederholtes Kochen alle entwicklungfähigen Keime anderer Lebewesen getödtet hatte (Sterilisation). In diese Flüssigkeiten brachte man dann das pilzhaltige Material und konnte nun allerdings bei geeigneter Temperatur beobachten, wie sich in derselben eine unendliche Menge von Mikroorganismen entwickelte, welche theils infolge specifischer Eigenbewegungen, theils durch Molecularbewegung lebhaft durcheinander schwirrten. War in dem infectiösen Material (Blut, Eiter, Gewebspartikelchen) zufällig nur eine Art von Mikroorganismen enthalten, so fanden sich natürlich auch in der Nährflüssigkeit nur die Abkömmlinge derselben, d. h. eine nach Form und Lebenserscheinungen genau charakterisirte und vollständig übereinstimmende Bacterienart vor. Im entgegengesetzten, und zwar dem bei Weitem öfteren Falle musste hingegen die Nährflüssigkeit die Abkömmlinge verschiedener Bacterienformen, ein buntes Bacteriengemisch, enthalten, das natürlich, je nachdem die eine oder die andere Art vorwaltete oder bei verschiedener Zusammensetzung des Nährmaterials, bei

verschiedenen Temperaturen etc. die Oberhand gewann, bei den mikroskopischen Untersuchungen ein sehr wechselndes Bild und bei der Verimpfung auf Versuchtsthiere eine ganz verschiedene Wirkung zeigen musste. Hierzu kam noch der Umstand, dass sich beim Oeffnen und Schliessen der Culturgefässe Luftkeime in die Flüssigkeit einsenken, sich in dieser ebenfalls vermehren und die Buntscheckigkeit der darin enthaltenen Bacterienformen noch erhöhen konnten. Ja es war gar nicht ausgeschlossen, dass erst diese aus der Luft in die Culturflüssigkeit hinein gelangenden Pilze jener pathogene Eigenschaften verliehen, die sie früher thatsächlich nicht besessen hatte.

Diese Verschiedenheit der Pilzformen, die auf solche Weise in dem flüssigen Nährsubstrat gezüchtet werden mussten und die man geneigt war, alle als Abkömmlinge ein und desselben, in thierischen Flüssigkeiten, resp. pathologischen Producten mittelst des Mikroskopes aufgefundenen Pilzes anzusprechen, wurde sogar Veranlassung, dass eine ganze Reihe sonst verdienter Forscher zu der irrthümlichen Anschauung verleitet wurden, es gäbe überhaupt keine morphologisch und biologisch, d. h. in ihren Formen und Lebensäusserungen constant bleibenden niederen Pilze oder Bacterien; Beides wechsle vielmehr je nach dem Nährboden. Kugel-, Stäbchen-, Fäden- und Schraubenform seien nur Entwicklungszustände, die alle bei ein und demselben Pilz, je nach den ihm zu Gebote stehenden Lebensbedingungen (Nährboden, Temperatur etc.) wechselten; jeder heute ganz harmlose Pilz könne morgen auf anderem Nährboden und unter anderen Aussenbedingungen zu einem pathogenen werden. Als besonders namhafte Vertreter dieser „Systemlosigkeit“ sind vor allen Nägeli, Buchner und Zopf zu nennen. Die Anschauungen und Lehren des Letzteren, die derselbe in gewiss sehr geistreicher, leider nur zu hypothetischer Form in seinem berühmten Buche: „Die Spaltpilze“ (Breslau, 2. Aufl. 1884), niedergelegt hat, sind in jüngster Zeit von Flügge (s. Deutsche medic. Wochenschr. 1884. No. 46) sehr scharf kritisirt worden und möchte ich die Leser auf diese Arbeit besonders verweisen.

Jener Anschauung über die Wandelbarkeit der Formen der Spaltpilze ist Koch von jeher entgegengetreten und mit Hülfe des von ihm zuerst zu diesem Zwecke angewandten festen Nährbodens ist es ihm gelungen nachzuweisen, dass auch die Spaltpilze in ihren Formen constant sind, sobald man nur vermag, dieselben in wirklichen Reinculturen zu züchten und zu erhalten.

Der Gegensatz zwischen flüssigem und festem Nährboden liegt darin, dass, während sich in ersterem die einzelnen Bacterien activ oder passiv bunt durcheinander bewegen können und

eine Trennung der einzelnen Formen geradezu unmöglich erscheint, auf oder in dem festen Nährboden jeder einzelne Keim vollständig an der ihm gegebenen Stelle fixirt ist, vollständig isolirt für sich weiter wachsend der Centralpunkt einer neuen Colonie morphologisch und biologisch vollständig gleichartiger Lebewesen wird und so lange bleibt, so lange sie nicht mit benachbarten, zu dicht anliegenden andersartigen Colonien zusammenfliesst, oder aus der Luft fremde Keime direct in sie hineinfallen. Um die einzelnen Pilzculturen isolirt zu erhalten, ist es daher nur nöthig, die Pilzkeime in der Nährgelatine möglichst dünn zu vertheilen und durch eine überdeckte Glasglocke fremde Luftkeime abzuhalten.

Das bei der Herstellung solcher Reinculturen im K. Gesundheitsamte übliche Verfahren ist folgendes: Die in dem mit sterilisirtem Wattepfropf verschlossenen Reagensglase befindliche, sorgfältig sterilisirte Nährgelatine (circa 10 Ccm.), über deren Herstellung weiter unten die nöthigen Anleitungen gegeben werden, wird in gelinder Wärme verflüssigt, in sie eine kleine Menge (je nach der ungefähr abgeschätzten Menge der darin enthaltenen Pilze weniger oder mehr) der bacterienhaltigen Substanz, z. B. ein stecknadelkopfgrosses Schleimflöckchen aus Cholerastuhl, Blut, Eiter etc. eingebracht und in ihr vertheilt. Dann wird aus diesem Originalglas eine bestimmte Menge, z. B. 5 kleine Tröpfchen, mittelst einer vorher geglühten, an einem Glasstabe befestigten (eingeschmolzenen) Platindrahtöse in ein ebenso vorbereitetes zweites Glas mit Nährgelatine gebracht und wieder mit dieser gemischt; schliesslich endlich kann von dieser gewissermassen ersten Verdünnung in gleicher Weise noch eine zweite, von dieser sogar eine dritte hergestellt werden. Das Alles geschieht, um die einzelnen Pilzkeime in der Gelatine möglichst zu isoliren [1]). Hierauf wird diese inficirte Gelatine auf vorher

1) Diese Procedur ist nicht so einfach, wie es scheint, und erfordert ausser grosser Sorgfalt die Beachtung gewisser technischer Handgriffe, welche sich schwer beschreiben lassen. Das Verfahren ist ungefähr folgendes. Ehe die Impfprocedur beginnt, versichert man sich, dass die Wattepfropfen in den hierzu benöthigten, die verflüssigte und mindestens wieder auf Körpertemperatur abgekühlte Gelatine enthaltenden Reagensgläsern locker genug sitzen und nirgends ankleben; eventuell werden dieselben mehrmals im Glase durch Drehung des letzteren mobil gemacht. Dann wird das mit dem Originalimpfstoff zu versehende Reagensglas mit Nährgelatine derartig in die mit der Volarfläche schräg nach oben gerichtete linke Hand genommen, dass dessen oberes Ende dem Handteller zugewendet innerhalb der Hand, das untere, dem Handrücken zugedrehte ausserhalb derselben liegt. Die Stellung des zwischen Daumen und Zeigefinger festgehaltenen Gläschens soll eine möglichst schräge sein, jedoch die Gelatine den Wattepfropf nicht

stark erhitzte und wieder erkaltete nicht zu dicke Glasplatten (10 : 12—14 Cm.) ausgegossen und rasch erstarren gelassen, was in etwa zehn Minuten geschehen ist.[1]) Diese dünne Gelatineschicht schliesst nun

---

erreichen. Dann wird mit dem vierten und fünften Finger der rechten Hand, welche den mit dem Platindraht armirten Glasstab schreibfederartig hält, der Wattepfropf gefasst, herausgezogen und festgehalten, während die schon vorher in das Impfmaterial getauchte geglühte Platinöse in die Gelatine eingeführt und jenes durch Ausstreichen an der Wandung des Glases und durch Hin- und Herschlagen der Oese in der Flüssigkeit mit letzterer vermischt wurde. Hierauf schliesst man sofort das Glas mit dem Wattepfropfen und vertheilt nun das infectiöse Material durch Drehen und Neigen des ersteren möglichst sorgfältig in der Gelatine. Es schadet nichts, wenn jetzt hierbei etwas von der Gelatine an das untere Ende des ja sterilisirten Wattepfropfens kommt. Ist auf diese Weise das „Original“ hergestellt, so wird die „erste Verdünnung“ desselben in folgender Weise bereitet: Das inficirte oder „maligne“ Glas wird, wie oben beschrieben, in die linke, die Platinöse in die rechte Hand genommen. In die linke Hand kommt ebenfalls, aber zu zweit nach aussen, dicht neben das maligne Glas, das zu inficirende (natürlich ebenfalls verflüssigte Gelatine enthaltende) oder „benigne“. Dann wird mit dem vierten und fünften Finger der rechten Hand zunächst der Pfropf aus dem malignen Glas entfernt, zwischen den vierten und fünften Finger der linken Hand gegeben und mit diesen festgehalten, sodann in gleicher Weise mit der rechten Hand der Pfropf des benignen Glases herausgezogen und zwischen deren viertem und fünftem Finger festgehalten. Hierauf taucht man die Platinöse in die flüssige, inficirte Gelatine des malignen Glases und vermischt den an der Oese hängenbleibenden Tropfen durch Eintauchen der Nadel in die Gelatine des benignen Glases und durch rasches Hin- und Herschlagen der Oese in der Flüssigkeit und wiederholt diese Procedur so oft, so viel Oesen (= Tropfen) inficirter Flüssigkeit in das benigne Glas übertragen werden sollen. Hierbei ist aber zu beachten, dass, wenn man die Oese aus dem benignen Glas herauszieht, ein Tropfen Gelatine daran hängt und dass man denselben erst nach Einführung in die Gelatine des malignen Glases durch Hin- und Herschlagen der Oese aus dieser entfernen muss, weil man ihn sonst unverändert in das benigne Glas zurück, resp. wiederholt hin- und hertragen würde. Ist die Impfung beendet, so wird erst der benigne, dann der maligne Pfropfen auf die betreffenden Gläser gesetzt und die Mischung der Pilzkeime mit der Gelatine in der Weise wie oben vorgenommen. Erst dann kann von dieser ersten eine zweite Verdünnung in derselben Weise angefertigt werden.

1) Das Sterilisiren der vorher sorgfältig gereinigten und getrockneten Glasplatten geschieht in der Weise, dass man eine Fläche derselben in ihrer ganzen Ausdehnung stark in einer nicht russenden Gas- oder Spiritusflamme erhitzt und die Platte dann mit der erhitzten Fläche nach oben auf einer einfachen Fliespapierunterlage auf einen Tisch mit möglichst horizontaler Platte legt. Bis zur vollständigen Abkühlung wird sie mit einer Glasglocke oder Glasschale, den einzelnen Theilen der noch zu er-

alle in der Flüssigkeit enthaltenen Pilzkeime ein, fixirt dieselben in ihrer Lage, welche auf den mit verschiedenen Verdünnungen hergestellten Platten natürlich eine sehr verschieden dichte sein wird. Dann kommen die Platten, um deren Austrocknen zu verhindern, in eine sogenannte feuchte Kammer (d. h. in zwei ineinander passende mit feuchtem Fliesspapier ausgelegte Glasglocken, von denen die eine als Deckel dient; oder zwischen zwei ebenso vorbereitete Suppenteller) und bleiben in dieser bei Zimmertemperatur ruhig stehen [1]).

Bereits am anderen, sicher aber am 2. oder 3. Tage kann man schon mit blossem Auge die Entwicklung der kleinen, anfangs nur punktförmigen Pilzcolonien in der Gelatine beobachten, von welchen jede einzelne eine isolirte, vollständig reine, d. h. aus morphologisch und biologisch gleichen Mikroorganismen bestehende Cultur darstellt. Interessant ist es fernerhin, das verschiedene weitere Verhalten dieser Culturen zu beobachten, welches ausserordentlich verschieden sein kann, selbst wenn die sie bildenden Individuen scheinbar morpho-

---

wähnenden sogenannten feuchten Kammern, oder mit gut gereinigten Suppen- oder Speisetellern bedeckt.

Die zum Ausgiessen fertige, inficirte Gelatine muss bis zu dem Grade abgekühlt sein, dass sie eben im Begriff ist, zu erstarren, ohne schon Klumpen gebildet zu haben; sie muss also zähflüssig sein. Durch Abkühlen in kaltem Wasser oder Erwärmen in der geschlossenen Hand, lässt sich der erforderliche Flüssigkeitsgrad leicht finden.

Das Ausgiessen geschieht in der Weise, dass die Gelatine nach und nach, aber immer nur auf die Mitte der Platte gegossen und dann mit Hülfe eines vorher stark erhitzten, wieder abgekühlten Glasstabes in der Weise ausgebreitet wird, dass sie auf der Glasplatte eine von den Rändern dieser möglichst 1 Cm. entfernt bleibende gleichmässige Schicht bildet. Sie wird hierauf einstweilen mit der schützenden Glocke bis zur vollständigen Erstarrung wieder bedeckt.

1) Die Platten werden auf kleinen Glasbänkchen übereinander gelegt, welche sich aus circa 4 Cm. breiten und circa 13—14 Cm. langen Glasstreifen leicht dadurch herstellen lassen, dass man auf die Oberfläche ihrer schmalen Seite mit Canadabalsam oder einem aus Kreide und Wasserglas bestehenden Kitt ganz am Rand je eine schmale Glasleiste von 5—6 Mm. Stärke befestigt. Auf das unterste Bänkchen kommt stets die erste, auf einen untergelegten Papierstreifen mit „O“ als „Original“ bezeichnete Platte. Darüber wird ein neues Bänkchen gesetzt, hierauf die zweite, als erste Verdünnung (mit I) bezeichnete Platte und darauf zuletzt in gleicher Weise die dritte Platte mit der zweiten Verdünnung (II) gebracht. Jede Cultur wird genau mit ihrem Inhalt bezeichnet, z. B.:

Milzbrand a. Herzblut v. Maus; 22. XI. 1884.
Unten O = 1 Oese Herzblut.
Mitte I = 5 Oesen von O.
Oben II = 5 Oesen von I. N. N.

logich übereinstimmen. Theils unterscheiden sie sich durch ihre Form und Farbe, theils sehr wesentlich dadurch, dass einzelne die Gelatine geruchlos oder andere unter gleichzeitiger Entwicklung verschiedener, meist sehr unangenehmer Gerüche verflüssigen, während noch andere über die Oberfläche des unverändert bleibenden Nährbodens prominiren und fast trockene Schuppen oder wenigstens nicht zerfliessende, beetartige Auflagerungen bilden. Entnimmt man nun aus der einen oder anderen kleinen Colonie mittelst einer geglühten Platinnadel und mit Hülfe des Mikroskopes eine minimale Pilzmenge (technisch als „Fischen" bezeichnet) und wiederholt die ganze Procedur mit 2—3 Platten noch einmal, so ist man im Stande, mit absoluter Sicherheit vollständige Reinculturen aller der verschiedenen in einem Bacteriengemisch enthaltenen Pilzformen darzustellen. Diese lassen sich nun in Form eines tiefen Einstiches mittelst einer mit der Spitze in die Reincultur getauchten, geraden, an einem Glasstab befindlichen, vorher sorgfältig geglühten Platinnadel in neue, noch im Reagensglase befindliche, starr gelassene Nährgelatine (sogenannte Stichcultur)[1]), auf erstarrtes Blutserum oder die Schnittflächen halbirter, in besonderer Weise präparirter Kartoffeln[2]), mit besonderer Vorsicht

---

1) Hierbei wird das zu inficirende, in der linken Hand befindliche Reagensglas stets, auch während der Lockerung und der Herausnahme des verschliessenden, zwischen dem vierten und fünften Finger der rechten Hand zu haltenden Wattepfropfes, mit der Oeffnung nach unten gehalten, um das Hereinfallen von Luftkeimen zu verhindern.

2) Hierzu können nur sogenannte Salat-, d. h. nicht mehlig kochende, schliffige Kartoffeln Verwendung finden. Diese werden mit Wasser und Bürste zunächst sorgfältig gereinigt, dann wird mit dem Messer ebenso sorgfältig und mit möglichster Schonung der Schale jede daran befindliche kleine faulige Stelle ausgekratzt und die Kartoffel hierauf eine Stunde in eine ½proc. Sublimatlösung gelegt. Nach dieser äusseren Desinfection wird sie eine halbe Stunde im strömenden Wasserdampf (Dampfkochtopf) gar gekocht, ohne dass sie hierbei aufspringen darf. Von jetzt ab soll die Kartoffel nur noch mit der linken in Sublimatlösung (1 : 1000) getauchten Hand mittelst Daumen und Zeigefinger gefasst und mittelst einem mit der rechten Hand gefassten, vorher erhitzten und wieder abgekühlten Messer zur Hälfte getheilt werden. Vorher ist schon die feuchte Kammer mittelst Sublimatlösung ausgewaschen und mit derselben Lösung angefeuchtetem Fliesspapier ausgelegt worden. In sie hinein werden beide Kartoffelhälften gelegt. Sowohl hierbei, als bei dem ferneren Ergreifen derselben ist unerlässliche Bedingung, dass dies nur mittelst der mit Sublimatlösung desinficirten linken Hand und derartig geschieht, dass die Volarflächen der Finger thunlichst den Rand der Schnittfläche und diese selbst nicht berühren. Die Aussaat des Pilzmateriales auf die Kartoffel hat alsbald nach dem Durchschneiden derselben, und das Ausstreichen des Impfmateriales über den grössten Theil der Schnittfläche, aber nie bis zum Rand der Kartoffel,

wohl auch in verschieden zusammengesetzte Nährflüssigkeiten überimpfen. Auf diese Weise kann man die Reincultur durch viele Generationen unter wechselnden Aussenbedingungen (sofern dieselben überhaupt das Wachsthum der Colonie gestatten) weiter züchten, ohne dass man je eine Veränderung in der Form der sie constituirenden Pilze oder in ihren Wachsthums- oder sonstigen biologischen Verhältnissen zu constatiren vermag, wenn auch zugegeben werden muss, dass einzelne physiologische Eigenthümlichkeiten (z. B. Virulenz der Milzbrandbacillen) hierbei einer Abschwächung unterliegen können.

Natürlich wird man sich durch diese Reinculturen auch das nöthige reine Material zu Infectionsversuchen bei Thieren schaffen und so das letzte Glied in der Kette des Beweises schliessen können, ob die in einem kranken Organ vorgefundenen Pilze oder einer derselben als die eigentliche Ursache des Krankheitsprocesses zu beschuldigen ist.

Mittelst dieses geschilderten Verfahrens ist es nun, wie schon oben bemerkt, Koch gelungen, die Lehre von der Wandelbarkeit der Spaltpilzformen zu widerlegen und das Gegentheil darzuthun, d. h. zu beweisen, dass jede einzelne Bacterienform bei fortgesetzten Reinculturen und unter den verschiedensten Aussenbedingungen morphologisch und biologisch unverändert bleibt. Hierdurch allein erst gewinnen die Koch'schen und die Entdeckungen anderer Forscher trotz der Spötteleien starrköpfiger Zweifler ihre eminent praktische Bedeutung! Hierdurch allein erst ist einmal die Füglichkeit gegeben, das Vorkommen gewisser in ihrer Form und in der Art ihres Wachsthums etc. vollkommen übereinstimmender Pilze bei gewissen Erkrankungen für die Erkennung der letzteren, d. h. diagnostisch zu verwerthen. Weiter bietet die Möglichkeit, die verschiedenen Pilzformen in Reinculturen zu isoliren und in ihren Lebensbedingungen zu studiren, erst die beste Gewähr dafür, dass nach und nach für die Verhütung und Heilung der Infectionskrankheiten eine sichere Basis geschaffen werden kann und wird! Und endlich dürfte die Methode der Koch'schen Reinculturen es möglich machen, auch diejenigen bisher noch unbekannten Mikroorganismen zu entdecken, welche eine Reihe von Infectionskrankheiten, namentlich auch eine Reihe wichtiger und vorherrschender Thierseuchen (z. B. Rinderpest, Lungenseuche, Schafpocken etc.) erzeugen!

---

mit vorher geglühtem und wieder abgekühlten Messer zu geschehen; ebenso das Ueberimpfen auf eine zweite und dritte Kartoffel zum Zweck der grösseren Vertheilung der Pilzkeime.

Nach dieser etwas eingehenden Schilderung der im K. Gesundheitsamte üblichen Methodik, ohne welche ein Verständniss des Nachfolgenden schwierig sein würde, habe ich bezüglich des Verlaufes des bacteriologischen Cursus im K. Gesundheitsamte Folgendes zu berichten:

Die ersten Uebungen bestanden in der vollständig eigenhändigen und selbständigen Anfertigung, resp. Vorbereitung und Sterilisirung der zur Cultivirung der Pilze erforderlichen Nährsubstrate (Nährgelatine und Kartoffeln), in der Sterilisirung der zur Aufbewahrung der Nährgelatine mit sterilisirtem Wattepfropf verschlossenen Reagensgläser und in der der Glasplatten, auf welche, wie schon oben beschrieben, die Nährgelatine zum Zweck der Isolirung der Reinculturen ausgebreitet wird, sowie endlich in der Anfertigung der zum Färben der Bacterien dienenden Färbeflüssigkeiten. Auch hierüber mögen, soweit dies nicht schon im Vorhergehenden geschehen, die zum vollen Verständniss der Methode erforderlichen Angaben folgen.

Als ein Nährsubstrat, auf dem die allermeisten Bacterien und vor Allem auch die meisten pathogenen Spaltpilze schon bei Zimmertemperatur (17—19° C.) wachsen, empfiehlt Koch die Fleischwasser-Pepton-Gelatine; für solche hingegen, welche höhere, der Blutwärme gleiche Temperaturen verlangen, bei welchen jede Gelatine sich verflüssigen würde, einen Nährboden, in welchem letztere durch die zuerst vom königl. sächs. Bezirksarzt Dr. Hesse in Schwarzenberg i|S. empfohlene Agar-Agar (eine beim Kochen gallertartig erweichende Alge) ersetzt ist. Ein solcher Nährboden bleibt selbst bei 40° noch ziemlich fest.

Die Bereitung der Fleischwasser-Pepton-Gelatine kann mit den einfachsten Hülfsmitteln in folgender Weise geschehen:

250 Grm. frisch gehacktes, möglichst fettfreies Rindfleisch werden mit 500 Grm. destillirten Wassers zusammen gerührt, über Nacht auf Eis stehen gelassen und nach wiederholtem Umrühren durch ein feines Seihtuch gepresst. Die früher hierzu empfohlene Fleischpresse ist entbehrlich. Die in ein grosses Becherglas durchgepresste Flüssigkeit wird nun durch Nachfüllen von destillirtem Wasser auf 400 Ccm. gebracht, ihr 4 Grm. Peptonum siccum (= 1 Proc.) und 2 Grm. Kochsalz (= ½ Proc.) und 40 Grm. (= 10 Proc.) gewöhnliche weisse Speisegelatine zugesetzt und alles zusammen so lange, circa eine halbe Stunde, stehen gelassen, bis letztere aufgequollen und ganz weich geworden ist. Hierauf wird das Becherglas in einem Wasserbad (wozu eventuell jeder Blechtopf, mit der nöthigen Menge Wasser gefüllt, dienen kann) bis zur völligen Lösung der Gelatine, aber nicht bis zur Gerinnung und Ausfällung des in der Flüssigkeit enthaltenen Eiweisses erwärmt und mit einer gesättigten Lösung von einfachem kohlensaueren Natron bis zu dem Grade neutralisirt, dass empfindliches blaues Lackmuspapier nicht verändert, empfindliches rothes aber leicht gebläut wird. Es ist dies der Theil der ganzen Procedur, welcher die allergrösste Sorgfalt dann erfordert, wenn es sich um Herstellung einer

Nährgelatine für den Cholerabacillus handelt, der nicht auf sauerer Nährgelatine wächst, sondern gerade den oben bezeichneten Grad der Reaction erfordert. Handelt es sich hingegen um andere Spaltpilze, so kann die Reaction unbedenklich, ja bei einzelnen muss sie sogar eine stärker alkalische sein, Verhältnisse, welche vielfach noch auszuprobiren sind. Sollte in dem einen oder anderen Fall die Reaction für den beabsichtigten Zweck eine zu alkalische geworden sein, so wird einfach mittelst Milchsäurelösung zurücktitrirt.

Hierauf wird das Ganze im Wasserbad gründlich ½—1 Stunde gekocht, worauf die Flüssigkeit ihre röthliche Färbung verliert und eine schwach gelbliche annimmt, da alles Eiweiss durch das Kochen ausgefällt wird. Letzteres muss vollständig geschehen, was man leicht daran erkennen kann, dass man eine kleine Menge der kochenden Flüssigkeit in ein reines Reagensglas filtrirt und das klare Filtrat nochmals aufkocht, wobei keine Trübung entstehen darf. Es empfiehlt sich, an dieser kleinen Probe nochmals die Reaction zu prüfen und erforderlichen Falles die Reaction der gesammten Flüssigkeitsmenge zu corrigiren.

Dann wird letztere noch heiss und in kleinen Portionen durch ein mit destillirtem Wasser angefeuchtetes Faltenfilter (auf dessen sorgfältige Anfertigung und Einlage viel ankommt) von schwedischem Filtrirpapier filtrirt; sind die zu filtrirenden Mengen gross, so können gleich mehrere Filter in Gang gesetzt werden. Die filtrirte helle, krystallklare, topasgelbe Gelatine wird dann sofort in die mit Wattepfropf versehenen sterilisirten Reagensgläser (s. unten) bis circa ⅓ Höhe derselben gefüllt, wobei darauf zu sehen ist, dass weder der Rand der letzteren, noch die innere Fläche ihres oberen Theiles (Stelle, wo der Wattepfropf sitzt) mit der Gelatine befeuchtet wird. Jener würde sonst anbacken und könnte später nicht leicht und mühelos entfernt werden. Aus diesem Grunde möchte ich empfehlen, zum Einfüllen eine grossbauchige, vorher sterilisirte, d. h. stark in der Gas- oder Spiritusflamme erhitzte und wieder etwas abgekühlte Pipette zu verwenden. Nach Verschluss mit dem Wattepfropfen, und ebenso am zweiten, dritten und vierten Tage nach der Zubereitung, werden die Gläschen jedes einzeln für sich über der Gas- oder Spiritusflamme vorsichtig aufgekocht, wobei ein starkes Aufschäumen vermieden werden muss, da sonst der Wattepfropf mit der Gelatine in Berührung kommt und anklebt (was später recht störend ist). Um dies zu vermeiden, kann man sämmtliche Gläser auch aufrecht in einen Topf stecken, so viel kaltes Wasser in denselben giessen, dass die Reagensgläser zur Hälfte darin stehen, dieses dann bis zum Kochen erhitzen und ca. eine Viertelstunde im Kochen erhalten. Um hierbei das unvermeidliche Aufstosen der Gläser auf den Boden des Topfes und das Zerbrechen derselben zu verhüten, bedeckt man den ersteren mit einer 5—8fachen Lage Leinwand. Auch diese Procedur wird am zweiten, dritten und vierten Tage in derselben Weise wiederholt.

Das Sterilisiren der Reagensgläser, welches man im Laboratorium in der Weise vornimmt, dass man die gut ausgewaschenen, eventuell mit Spiritus nachgespülten, absolut trockenen und mit einem mässig lockersitzenden Wattepfropf versehenen Gläschen in einem sogenannten Wärmschrank eine Stunde lang auf 160°C. erhitzt, lässt sich in der Praxis nach der im Gesundheitsamt während der Choleracurse geübten Methode sehr viel einfacher vornehmen.

Zunächst wird in das in gleicher Weise vorbereitete Reagensglas der Wattepfropf mittelst einer an der Spitze stark erhitzten (ein eigentliches Glühen ist weder in diesem, noch in später zu erwähnenden ähnlichen Fällen unbedingt nothwendig; es genügt ein Grad der Erhitzung, dass der auf eine solche Weise behandelte Gegenstand bei circa 1—2 Cm. Entfernung vom Gesicht gebracht, sich deutlich durch die von ihm ausstrahlende Wärme bemerklich macht) Pincette einige Centimeter weit eingeschoben, dann das Glas zunächst in seinen unteren zwei Dritttheilen über einer Spiritus- oder nicht russenden Gasflamme stark erhitzt und hierauf so weit abkühlen gelassen, bis man im Stande ist, dasselbe am unteren Ende zu fassen um dieselbe Procedur am oberen Dritttheil, namentlich dort zu wiederholen, wo der Wattepfropf sitzt, der ebenfalls hinreichend desinficirt werden muss. Dass dies geschehen, erkennt man an einer leicht bräunlichen Färbung desselben. Ist dies erreicht, so lässt man den oberen Theil des Gläschens einen Moment abkühlen und zieht den Pfropf mit der wiederum erhitzten Pincette so weit in die Mündung herein, dass man ihn bequem mit den Fingern anfassen kann.

Bei allen diesen Manipulationen, welche alle auf die sorgfältigste Sterilisation des Nährbodens und auf die peinlichste Vermeidung jeder zufälligen Infection desselben hinauslaufen, wurde als Princip grösste Einfachheit und Emancipirung von allen jenen Apparaten (Sterilisationsofen, Heisswassertrichter etc.) streng durchgeführt, wie sie in bacteriologischen Laboratorien Verwendung finden. Dieser Punkt ist in praktischer Beziehung von der grössten Bedeutung. Gerade durch diese Vereinfachung des Verfahrens, zu welcher Koch vielfach in Indien seine Zuflucht nehmen musste, wird dem praktischen Arzt und Medicinalbeamten erst die Möglichkeit geboten, die von Koch empfohlene Untersuchungsmethode in der Praxis üben und vor Allem — denn dies ist ja der eigentliche Zweck des Cursus — mittelst derselben die von ihm als ein specifischer Bestandtheil des Darminhaltes und der Entleerungen Cholerakranker bezeichneten kommaähnlichen Bacillen nachweisen zu können. Es wird hierdurch gewissermassen eine Methode zum Gemeingut der praktischen Menschen- und Thierärzte gemacht, deren Ausführung man früher nur in dem Laboratorium eines pathologischen oder bacteriologischen Institutes für möglich hielt.

Nach diesen vorbereitenden Arbeiten begann die selbständige Anfertigung von sogenannten „Reinculturen“ aus verschiedenen Bacteriengemischen menschlicher und thierischer Abstammung. Die hierbei gestellte Aufgabe, die darin enthaltenen verschiedenen Bacterien „auseinander zu bringen“ und als Reinculturen in Form von Stichculturen von der Gelatineplatte in das Reagensglas zu übertragen, konnte von allen Curstheilnehmern mit Hülfe der oben beschriebenen Methoden ohne Schwierigkeiten gelöst werden. Besonders gelangte hierzu auch jenes Bacteriengemisch zur Verwendung,

welches die durch die politische Tagespresse genügend bekannten Herren Finkler und Prior Herrn Geh. Reg.-Rath Dr. Koch als „nahezu reine“ Cultur eines von ihnen in den Ausleerungen von Cholera nostras aufgefundenen kommaähnlichen Bacillus übersendet hatten. Nach ihrer Ansicht soll derselbe ja mit dem von Koch beschriebenen, bei der Cholera asiatica entdeckten und nach ihm dieser allein zukommenden, kommaähnlichen Bacillus identisch sein. Wie den früheren Cursen, so gelang es auch den Theilnehmern am jüngst beendeten, ohne grosse Mühe aus diesem letzteren Bacteriengemisch vier sich morphologisch und biologisch verschieden verhaltende Pilze zu isoliren und rein weiter zu züchten!

Zur Controle dieser Untersuchungen wurden nebenher zahlreiche Deckglas-Trockenpräparate gefertigt, diese mit verschiedenen Anilinfarben, besonders Fuchsin, Methylenblau und Gentianaviolett gefärbt und mittelst Oelimmersion durchmustert.

Wenn auch die Anfertigung von Deckglastrockenpräparaten im Allgemeinen bekannt sein dürfte, so will ich doch die speciell von Koch eingeführte Methode kurz angeben, um so mehr, als in einer vor Kurzem erschienen Anleitung zur Färbung von Mikroorganismen über die „Koch'sche Methode“ unrichtige Angaben gemacht worden sind.

Handelt es sich um die Untersuchung einer, dichte Mengen von Spaltpilzen enthaltenden Flüssigkeit (z. B. Colonien aus Plattenculturen, Milzbrandblut etc.), so setzt man erst mittelst einer vorher geglühten kleinen Platindrahtöse einen circa hirsekorngrossen Tropfen destillirten und durch wiederholtes Kochen (s. S. 16) sterilisirten Wassers auf das vorher gut gereinigte Deckglas, bringt in diesen hinein mit einer anderen Platinnadel eine minimale Menge der zu untersuchenden Substanz und verreibt beides auf dem mit der Pincette gehaltenen Deckglas mit Hülfe der Nadel gleichmässig auf dem grössten Theil desselben.[1]) Substanzen, welche weniger bacterienreich sind.

---

1) Das Entnehmen solcher minimaler Pilzmengen aus den kleinen, makroskopisch oft nur punktförmig erscheinenden Colonien der Gelatineplatten hat unter dem Mikroskope zu erfolgen und ist nicht ganz leicht.

Die Platte wird auf den Tisch des Mikroskopes gebracht und mit schwacher Vergrösserung und enger Blende (Zeiss A, Ocul. 4) eine möglichst isolirte und typische Cultur eingestellt. Dann führt man mit der rechten. durch den kleinen Finger gestützten Hand eine feine, an der Spitze auf 1 Mm. Länge leicht hakenförmig gebogene, vorher ausgeglühte und wieder abgekühlte Platinnadel so lange über die Oberfläche der Gelatine, ohne diese aber zu berühren, bis man das kleine Häkchen deutlich im Gesichtsfeld des Mikroskopes über der betreffenden Colonie erkennen kann. Sofort wird nun die Nadelspitze in die Colonie eingesenkt und wieder vertical nach oben gehoben, wobei man sich unter der steten Controle des Mikroskopes davon überzeugt, dass man die Colonie wirklich getroffen hat, dass von dieser wirklich Theile fehlen, d. h. also an der Nadel hängen geblieben

können in derselben Weise auch ohne Wasserzusatz behandelt werden, so dass sie auf dem Deckglas eine gleichmässige, recht dünne Schicht bilden, welche man an der Luft vollständig trocknen lässt. Nach dem Trocknen wird das mit der Pincette gefasste Deckglas so, dass die getrocknete Schicht sich auf der oberen Fläche befindet, dreimal durch eine Spiritusflamme oder nicht russende Gasflamme gezogen, indem man mit der Hand einen vertical gestellten Kreis von ca. 1 Fuss Durchmesser beschreibt, die Bewegung ohne jedes Anhalten ausführt und zu dem dreimaligen Durchziehen etwa 3 Secunden gebraucht.

In ebensolcher Weise fertigt man das Trockenpräparat an, wenn es sich um die Untersuchung eines Cholerastuhles handelt. Am zweckmässigsten soll man hierzu ein kleines, eben stecknadelkopfgrosses Schleimflöckchen nehmen, das man mit einem Platindraht auf den Rand des mit dem Stuhl gefüllten Gefässes hinaufzieht und auf dem Deckglas in obiger Weise verreibt; die etwa überschüssige Masse wird an einer Ecke des letzteren mit etwas Fliesspapier entfernt. Trocknen und Erhitzen („Braten") wie oben.

Die Färbung solcher Deckglaspräparate erfolgt, indem man einen Tropfen der gleich zu erwähnenden Farbstofflösungen (bei Cholera am besten Fuchsin) mittelst einer kleinen Pipette darauf bringt. Nachdem diese mit der eingetrockneten Schicht mehrere Minuten in Berührung gewesen ist, wird sie mittelst destillirten Wassers vorsichtig abgespült, das Deckgläschen mit einem Tropfen Wasser auf den Objectträger gebracht und mit Oelimmersion untersucht. Nur diese directen Untersuchungen in Wasser geben neben den Beobachtungen der Bacterien in Tropfenculturen (s. S. 20), über die charakteristischen morphologischen Verhältnisse der Spaltpilze sichere Auskunft. Durch das Einlegen in Balsam, in welcher Weise man später die Präparate nach dem Abtrocknen immer noch conserviren kann, treten mancherlei Schrumpfungsprocesse ein.

Als Farbstoffe zur Färbung der Deckglastrockenpräparate wurden im K. Gesundheitsamt für gewöhnlich nur Fuchsin, Methylenblau und Gentianaviolett (von König, Berlin, Dorothenstrasse 35 zu beziehen) verwendet. Vom Gentianaviolett werden 2¼ Grm. in 100 Grm. Wasser, vom Fuchsin und Methylenblau 2 Grm. in 15 Grm. Alkohol und 85 Grm. Wasser gelöst und nach mehrstündigem Stehen und zeitweiligem Umschütteln filtrirt zum Gebrauch aufbewahrt.

Dass nebenher vor Allem auch dem Studium des Koch-schen Cholera-Kommabacillus, dem Hauptzweck der abgehaltenen Curse, die eingehendste Beachtung geschenkt wurde, bedarf bei dem Ernste der Situation keiner besonderen Versicherung. Auch dieser Punkt verdient eine speciellere Besprechung.

Zum Studium des Cholerapilzes war im K. Gesundheitsamt ein besonderes Zimmer bestimmt, das jeder Cursabtheilung, deren drei gebildet worden waren, täglich 2—2½ Stunde zur Disposition stand. Nur in diesem Zimmer durfte mit Cholera gearbeitet, lebendes Cholera-

---

sind. Hierauf wird, wie oben besprochen, mit dem „Gefischten" entweder ein Deckglaspräparat angefertigt, oder ein neues Reagensglas mit Gelatine in der S. 10, Anmerkung, beschriebenen Weise geimpft.

Pilzmaterial aber nicht mit über dessen Schwelle nach aussen genommen werden. Strenge Desinfection der Hände etc. beim Verlassen des Zimmers wurde peinlichst beobachtet.

In diesem sogenannten „Cholerazimmer“ wurden zunächst täglich Platten- und Stichculturen des Cholerapilzes, sowie Culturen desselben im hängenden Tropfen innerhalb eines hohlgeschliffenen Objectträgers angefertigt.

Diese Culturen im hängenden Tropfen gestatten, die Bacterien im lebenden Zustand bei starker Vergrösserung zu beobachten und werden in folgender Weise angefertigt.

Nachdem man einen in der Mitte mit einer ca. 1—1½ Cm. im Durchmesser haltenden Vertiefung versehenen, hohlgeschliffenen Objectträger rings um den Rand der Kammer mit einer dünnen Schicht Vaseline versehen, bringt man auf die Mitte eines gut gereinigten Deckglases ein kleines Tröpfchen (nicht grösser als ein starkes Hirsekorn oder eine kleine Linse) Nährflüssigkeit, als welche sich für die Mehrzahl der Pilze am besten neutralisirte Bouillon eignen dürfte. Diese wird genau nach Vorschrift der Fleischwasser-Peptongelatine hergestellt, ebenso neutralisirt und wiederholt sterilisirt, nur mit dem Unterschiede, dass weder Gelatine, noch Pepton zugesetzt wird (s. S. 15). Dieses Tröpfchen inficirt man mit einer vorher ausgeglühten Platinnadel, indem man mit der Spitze eine Reincultur berührt, oder mit dieser z. B. aus Cholerastuhl oder sonst einer bacterienhaltigen Substanz eine winzig kleine Portion entnimmt und leicht mit dem Tropfen verreibt, ohne diesem aber eine grössere Ausdehnung zu geben. Dann wird das Deckgläschen rasch umgedreht und derartig auf den Objectträger gelegt, dass der Tropfen gerade in der Mitte der Kammer schwebt, ohne deren Boden und Rand zu berühren. Immer ist es gut, mehrere solche Objectträgerculturen von ein und demselben Material herzustellen.

Bei der am nächsten Tag erfolgenden Durchmusterung (mit Oelimmersion, enger Blende und schwachem Ocular) achte man besonders auf den Rand des Tropfens. Während man z. B. bei Cholerabacillen im Centrum des Tropfens das bunte Gewimmel der sich lebhaft bewegenden Bacterien bemerkt, kann man in der Randzone nicht nur sehr schön die zur Ruhe gekommenen Formen studiren, sondern wird auch in Cholerаculturen zahlreich gewundene Fäden, spirochätenähnliche Gebilde, bemerken, welche zum Cholerabacillus in genetischer, noch nicht völlig aufgeklärter Beziehung stehen sollen (vergl. X. Bd. der Zeitschrift für Thiermedicin S. 421). — Hat man die ungefärbten lebenden Pilze genügend studirt, so hebt man das Deckgläschen vorsichtig ab, dreht es um und lässt die Flüssigkeit genau in der Lage eintrocknen, in welcher sie sich befindet. Dann wird die Vaseline abgewischt, die Schicht gefärbt und nochmals in Wasser untersucht, oder das Präparat direct in Balsam eingelegt.

Bemerkt man in solchen Culturen Pilze, welche man näher studiren will, oder bei Choleraverdacht verdächtige Bacillenformen, so kann man von diesem Tropfen Plattenculturen nach den bereits gegebenen Vorschriften anfertigen.

Ganz besonders boten diese Culturen im ausgehöhlten Object-

träger Gelegenheit, den abtödtenden Einfluss des Eintrocknens auf die Koch'schen Kommabacillen kennen zu lernen. In der oben beschriebenen Weise wurde eine Reihe von Deckgläsern mit Reinculturen von Cholerabacillen inficirt und hierauf sofort eintrocknen gelassen. Von $^1/_4$ zu $^1/_4$ Stunde wurde dann eines der Deckgläschen genommen, ein Tröpfchen Bouillon zugesetzt und ersteres dann in der geschilderten Weise auf den hohlen Objectträger befestigt. Musterte man nach 24 Stunden sämmtliche Präparate durch, so konnte man constatiren, dass nur in denjenigen Präparaten die Cholerabacillen das Eintrocknen überlebt, d. h. sich durch lebhaftes Wachsthum vermehrt und ihre Beweglichkeit behalten hatten, denen nicht länger als ca. $2^1/_2$ Stunden die Feuchtigkeit entzogen worden war. Nach einem 3stündigen Eintrocknen soll nach den bisher im K. Gesundheitsamte gemachten Beobachtungen in keinem Falle eine Rückkehr dieser charakteristischen Lebenserscheinung beobachtet worden sein. Da aber nach allen bisher vorliegenden Beobachtungen der Cholerapilz keine Dauersporen bildet, so darf man mit Koch wohl die absolute Trockenheit, wo solche rasch zu erreichen ist, mit Recht als ein vorzügliches Desinfectionsmittel bei Cholera bezeichnen. (Wird auch neuerdings von Nicati und Rietsch — Revue scientifique, Nr. 21, ref. in der Deutsch. medicin. Wochenschr. Nr. 48 — bestätigt.)

Mit der fortschreitenden Kenntniss der Morphologie und Biologie des Koch'schen Cholerabacillus wurde es auch jedem der am Curse Betheiligten möglich, sich über die specifischen Verschiedenheiten dieses Pilzes von dem von Finkler und Prior entdeckten Kommabacillus, sowie über die vollständige Begründung der harten, aber gerechten Kritik ein eigenes Urtheil zu bilden, welche Koch[1]) in seiner oben citirten Erklärung an beiden Forschern geübt und P. Börner[2])

---

1) Nachdem Koch aus den eigenen Angaben Finkler-Prior's die vollständige Fehlerhaftigkeit ihrer Culturmethoden nachgewiesen hat — vergl. auch Börner l. c. — gipfelt sich sein Urtheil in folgenden Worten:

„Diese beiden Proben genügen hinlänglich, um zu zeigen, dass Finkler und Prior sich weder mit den einschläglichen Untersuchungsmethoden, noch mit der Biologie der Bacterien vertraut gemacht haben, und dass sie also, gelinde gesagt, sich noch nicht einmal die Anfangsgründe der Bacteriologie angeeignet hatten, als sie ihre so viel Aufsehen machenden Untersuchungen ausführten."

2) P. Börner (Deutsche med. Wochenschr. Nr. 47. 20. Nov. 1884) charakterisirt zunächst die ganze Natur der Finkler-Prior'schen Polemik gegen Koch sehr treffend durch den Hinweis auf den Umstand, dass beide Herren ihre Angriffe gegen Koch in einer politischen Zeitung veröffentlichten, welche

in noch schärferer Weise vervollständigt hat. Es ist hier nicht der Ort, über den Inhalt dieser polemischen Artikel, welche ich der Beachtung der Leser hiermit empfehle, speciell zu referiren. Ich halte es für richtiger, ganz objectiv meine eigenen, im K. Gesundheitsamte gemachten Beobachtungen über diesen Gegenstand mitzutheilen. Auf Grund derselben halte ich mich allerdings für vollständig berechtigt auszusprechen, dass es mir geradezu unbegreiflich erscheint, wie Finkler und Prior diese zur Unterscheidung beider Pilzarten mehr als ausreichenden Verschiedenheiten immer noch hartnäckig leugnen und sich in dem bekannten, in der Kölnischen Zeitung Nr. 314 vom 11. November 1884 enthaltenen, gegen Koch gerichteten Artikel sogar zu der Behauptung hinreissen lassen können, „dass die Differenzen, welche Koch für das biologische Verhalten angibt, viel zu ungenau und unconstant seien, als dass man sie zur Diagnostik verwenden könne“, eine Behauptung, welche Finkler auch in der am 8. November d. J. zu Bonn stattgefundenen allgemeinen Sitzung der Niederrheinischen Gesellschaft für Natur- und Heilkunde laut dem in Nr. 323 d. Köln. Ztg. veröffentlichten officiellen Protokoll dieser Versammlung ausgesprochen hat.

Was zunächst die Form dieser beiden kommaähnlichen Pilze anbelangt, so lässt sich zwar nicht leugnen, dass dieselbe bei ihrer Einbettung in Canadabalsam eine recht ähnliche sein kann. Indess verschwindet die Möglichkeit jeder Täuschung für den Geübteren sofort, wenn er die frisch gefärbten Pilze bei gleichen mikroskopischen Vergrösserungen in Wasser untersucht. Er wird dann leicht erkennen, dass der Koch'sche Kommabacillus ausserordentlich fein und schlank, der Finkler'sche hingegen grösser und bei Weitem plumper ist.

---

bisher in offensivster Weise keine Notiz von einer Kritik ihrer Entdeckung durch Hüppe, sowie von Koch's Erklärung (l. c.) genommen hatte, trotzdem sogar durch die Redaction der Deutschen medic. Wochenschrift rechtzeitig ein Abzug von letzterer übermittelt worden war.

Auch P. Börner weist aus Finkler-Prior's eigenen Angaben, namentlich auch aus jenem oben mehrfach genannten Artikel der Kölnischen Zeitung nach, „dass ihnen bisher das Verständniss für eine Reincultur im Koch'schen Sinne fehlte, und dass sie eine solche anscheinend selbst jetzt noch nicht zu Stande gebracht haben.“ Wie mir scheint nicht ganz mit Unrecht, bemerkt P. Börner noch: „Haben die Herren Finkler und Prior denn keine Ahnung davon, dass sie durch eine solche Darstellung (wie in der Kölnischen Zeitung) ihrem wissenschaftlichen Ruf mehr schaden, als es der schärfste Angriff thun könnte? Lassen sie die Lorbeeren Spina's nicht schlafen und haben sie so grosse Eile, ihre wissenschaftliche Zukunft zu compromittiren?“

Aber selbst zugegeben, dass die morphologischen Verhältnisse, soweit die uns zur Zeit zur Verfügung stehenden optischen Hülfsmittel deren Beurtheilung gestatten, die gleichen wären, so zwingt dieser Umstand doch nicht, auch nothwendig eine Gleichheit der biologischen Verhältnisse beider Pilze annehmen zu müssen, ebensowenig wie die Gleichheit des äusseren Ansehens einer süssen und bitteren Mandel nothwendig, auch eine Gleichheit ihrer chemischen Bestandtheile und ihrer Wirkungen bedingt, welche bekanntlich ganz bedeutende Verschiedenheiten aufweisen.

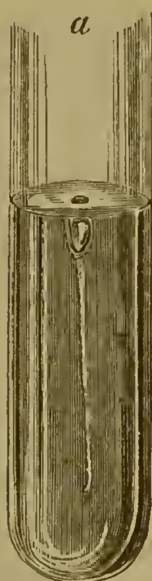
Auch der Koch'sche und der Finkler-Prior'sche Kommabacillus bieten trotz einer gewissen Formähnlichkeit in ihren Lebenserscheinungen ganz enorme Verschiedenheiten.

Zunächst zeigt der letztere bei gleichen Existenzbedingungen (Nährboden und Temperatur) ein viel energischeres Wachsthum wie ersterer. Die in den Gelatine-Plattenculturen sich entwickelnden Einzelcolonien des Finkler-Prior'schen Bacillus, die namentlich in den ersten 2 Tagen eine deutlich gelbbraune Farbe zeigen, sind stets von gleichmässig runder, scharfrandiger Form und zeigen bei schwacher und mittlerer Vergrösserung ein sehr fein granulirtes Ansehen. Dabei verflüssigen sie sehr rasch die auf der Glasplatte befindliche Gelatineschicht unter gleichzeitiger Entwicklung eines penetranten, intensiv fauligen Gestankes, so dass sie schon nach 24 bis 36 Stunden tief in diese einsinken und sich mit einer breiten Zone verflüssigten Nährsubstrates umgeben. Hierbei verliert sich auch allmählich das geschlossene, fein granulirte Ansehen der Colonie, das vielfach einer allerdings schwer zu beschreibenden, unregelmässig büschelförmig schraffirten Zeichnung Platz macht. Die Neigung zur Verflüssigung der Gelatine ist so stark, dass schon nach 2—3 Tagen eine nur mit wenigen Colonien besetzte Gelatine-Plattencultur vollständig verflüssigt ist.

Ganz anders verhält sich der Koch'sche Kommabacillus, dessen Colonien bei vollständig gleichen Existenzbedingungen zunächst etwas langsamer wachsen und niemals eine braune Färbung zeigen. Sie haben im jugendlichen Zustand vielmehr ein leicht gelbröthliches oder gelbrosaes Ansehen. Die Verflüssigung der Gelatine in ihrer Umgebung macht nur langsame Fortschritte, wobei die Cultur allmählich in die Tiefe sinkt und eine kleine trichterförmige Vertiefung bildet, auf deren Grund man die kleine punktförmige Pilzcolonie schon sehr deutlich mit blossen Augen erkennen kann. Bei der mikroskopischen Betrachtung ist letztere nun vor Allem dadurch charakterisirt, dass ihr Rand nie scharf und glatt, sondern stets ausgezackt, gleichsam ausgenagt und, wie die ganze Colonie, scheinbar aus feinen,

stark glänzenden Bröckchen zerstossenen Glases zusammengesetzt erscheint. Stinkende Gase entwickeln sich hierbei selbst nach 5 bis 6 Tagen nicht, höchstens ein ganz schwach urinöser, resp. schwach aromatischer Geruch.

Noch auffallender wird die Verschiedenheit des Verhaltens beider Pilze in Stichculturen im Reagensglase, die man sich leicht in der oben beschriebenen Weise herstellen kann. Dieselben werden in ausgezeichneter Weise durch die Holzschnitte (s. unten) illustrirt, zu welchen die Zeichnungen von Herrn Prof. Dr. Thierfelder[1]) während des Cursus nach der Natur angefertigt und von Herrn Geh. Reg.-Rath Koch als vollständig correct controlirt wurden. Selbst





Cultur von Koch's Kommabacillus der Cholera asiatica.
a 2 Tage alt. *b* 4 Tage alt.





Cultur von Finkler-Prior's Kommabacillus.
c 2 Tage alt. *d* 4 Tage alt.

der Laie kann hier ohne jede Kenntniss der ganzen Frage sofort deutlich sehen, wie energisch der Finkler-Prior'sche Kommabacillus (c, d) schon nach 2 resp. 4 Tagen die Nährgelatine verflüssigt, und zwar nicht blos an der Oberfläche, sondern auch in der ganzen Länge des Impfstiches, der hierdurch, wie sich Koch ausdrückt, die Gestalt eines länglichen Sackes oder Strumpfes bekommt. Bei den unter ganz gleichen Aussenbedingungen angefertigten und gehaltenen Stichculturen des Koch'schen Cholerabacillus (a, b) hingegen findet die Verflüssigung der Gelatine niemals sofort in der ganzen Länge des Impfstiches, sondern nur ganz allmählich von dessen oberem Ende

1) Herrn Prof. Dr. Thierfelder in Rostock sage ich hierfür mit herzlichem Gruss nochmals meinen besten Dank. J.

her statt. Hier bildet sich zunächst eine langsam an Umfang zunehmende scharfrandige, trichter- oder krugartige Vertiefung, welche scheinbar eine Luftblase einschliesst. Der untere Theil des Impfstiches bleibt hingegen noch Tage lang in Form eines feinen weissen Fadens erhalten.

Ebenso charakteristische biologische Differenzen ergeben endlich die Culturen beider Pilze auf gekochten Kartoffeln. Während der Finkler-Prior'sche schon bei Zimmertemperatur üppig wachsende, leicht graugelb gefärbte, mit einer weisslichen Randzone versehene, schleimige Culturen bildet, welche sich schliesslich gleichsam in die Oberfläche der Kartoffel hineinfressen, wächst der Koch'sche Kommabacillus auf diesem Nährboden nur bei Bluttemperatur (37°) und bildet dann dunkelbraune Culturen, ähnlich denen, wie sie der Rotzbacillus darstellt.

Diese ausserordentlich prägnanten Unterschiede beider Pilze sind aber — und dies ist von grösster Bedeutung — nicht etwa zufällige, inconstante. Sie sind vielmehr ausserordentlich constante und charakteristische und wurden bisher bei allen seit Monaten im K. Gesundheitsamte angefertigten, bereits nach vielen Hunderten zählenden Culturen, sowie auch ausserhalb desselben von van Ermengem, einem Belgier, ganz unabhängig von Koch vorgefunden. Dies geht nicht nur aus einer Veröffentlichung jenes Forschers über diesen Gegenstand (ref. von Gaffky in der Deutsch. med. Wochenschr. 1884, vom 13. Nov., Nr. 46), sondern vor Allem aus den von ihm angefertigten ausgezeichneten Photographien der Platten- und Stichculturen beider Pilze hervor, welche derselbe Herrn Geh. Reg.-Rath Koch übersendet hat.[1]) Auch in allen anderen Punkten (namentlich auch bezüglich der ihm ebenfalls von Finkler und Prior überlassenen angeblichen Reinculturen ihres Pilzes) befindet sich van Ermengem auf Grund eigener und vollständig unabhängig von Koch in Marseille angestellter Untersuchungen im vollständigen Einverständniss mit Letzterem.

Dass auch die in der menschlichen Mundhöhle vorkommenden Bacterien, besonders die im Zahnschleim sich vorfindenden kommaähnlichen Formen, bei den Cursarbeiten im K. Gesundheitsamt ein-

---

1) Auch Nicati und Rietsch, denen es während der letzten Choleraepidemie in Marseille beiläufig gelungen ist, durch Einspritzung von Cholerabacillen in den Zwölffingerdarm choleraähnliche Zufälle zu erzeugen, wenn bei Hunden vorher der Ductus choledochus unterbunden wurde (bei Meerschweinchen ohne diese letztere Procedur), halten den Finkler-Prior'schen Bacillus nicht für identisch mit dem Koch'schen.

gehende Beachtung fanden, versteht sich von selbst. Es lag um so mehr Veranlassung hierzu vor, als von T. R. Lewis (Lancet. Sept. 20. 1884. p. 513) darauf hingewiesen worden war, dass im Mundspeichel gekrümmte Bacillen vorkämen, welche den Cholerabacillen in ihren Grössenverhältnissen sehr nahe ständen. In seiner mehrfach citirten Erklärung hat Koch schon darauf hingewiesen, dass einmal die Beobachtung solcher kommaähnlichen Bacillen im Mundspeichel keine neue sei; ferner, dass auch hier der scheinbaren morphologischen Gleichheit oder wenigstens Aehnlichkeit, die thatsächlich übrigens keine so sehr bedeutende wäre, wesentliche biologische Differenzen entgegenständen. Der Lewis'sche Kommabacillus wachse nämlich im Gegensatz zum Cholera-Kommabacillus in neutraler oder schwach saurer Gelatine nicht, eine Beobachtung, die auch im Curs wiederum Bestätigung fand. In allerjüngster Zeit hat sich auch Prof. Miller (Deutsche med. Wochenschr. 1884. No. 48), welcher diese im Mundschleim vorkommenden Kommabacillen zuerst im Jahre 1882 beschrieben, gegen Lewis gewendet und auf Grund seiner biologischen Untersuchungen erklärt, dass der von Letzterem beobachtete Kommabacillus „grundverschieden" von dem Cholera-Kommabacillus sei. Dergl. kommaähnliche Bacillen sollen nach demselben Autor beiläufig schon im Jahre 1879 gefunden und unter dem Namen „Dentalbacterium" als Ursache der Zahncaries angesehen worden sein.

So darf man denn wohl nach allem — und in dieser Ueberzeugung hat mich die Theilnahme am bacteriologischen Cursus im K. Gesundheitsamte vollkommen befestigt — mit Koch die von ihm gefundenen Kommabacillen als „specifische, auschliesslich der Cholera asiatica angehörige Bacterien" ansehen. *Bisher ist es, so viel steht fest, wenigstens noch Niemandem, auch Finkler und Prior nicht, gelungen, einen Mikroorganismus aufzufinden, welcher mit dem Koch'schen Cholerabacillus identisch wäre, resp. mit demselben verwechselt werden könnte.* Diese Thatsache ist von principieller Bedeutung für die ätiologische und diagnostische Bedeutung des Koch'schen Cholera-Kommabacillus. Für die Aetiologie insofern, da, wenn der Nachweis erbracht worden wäre, dass ausser bei der Cholera asiatica auch bei anderen Krankheiten, also wie Finkler und Prior irrthümlich behaupten, auch bei der Cholera nostras ein dem Koch'schen Kommabacillus in jeder Beziehung gleichartiger Bacillus vorkäme, jener also einen charakteristischen, specifischen Befund bei Cholera asiatica nicht bilde, die ganze von Koch aufgestellte Aetiologie dieser Krankheit in sich zusammenfallen müsste. Damit wäre natürlich auch die diagnostische Bedeutung des Koch-schen Kommabacillus vernichtet und Niemand könnte wagen, auf Grund

seines Vorkommens in dem Darminhalt oder -Entleerungen eines verdächtigen Kranken die Diagnose auf Cholera asiatica zu stellen. —

Die zur Zeit im K. Gesundheitsamte im Gange befindlichen Uebertragungsversuche des Cholerapilzes auf Kaninchen, Meerschweinchen etc., welche speciell nur von Koch und seinem langjährigen treuen Mitarbeiter Gaffky vorgenommen werden, scheinen, soviel ich in Erfahrung bringen konnte, ganz positive Resultate zu ergeben. Die directe Uebertragung von Reinculturen des Cholerapilzes in den Darm der genannten Versuchsthiere soll in fast jedem Falle den Tod derselben unter den Erscheinungen der Cholera zur Folge haben. Indess werden die betreffenden Versuche, als noch nicht abgeschlossen, so secret behandelt, dass ich weitere Mittheilungen hierüber als die von Koch bereits selbst publicirten, nicht zu geben im Stande bin. (Vergl. hierüber Deutsch. med. Wochenschr. 1884. No. 45. S. 728.)

Wenn ich nun zum Schluss noch den Gesammteindruck mittheilen soll, den ich auf Grund meiner eigenen Beobachtungen während des Cursus im K. Gesundheitsamte von der ätiologischen und diagnostischen Bedeutung der Koch'schen Entdeckung und deren Werth für die Praxis gewonnen habe, so besteht für mich kein Zweifel darüber:

1. dass, da der Koch'sche Kommabacillus ein der Cholera asiatica eigenthümlicher Mikroorganismus ist, durch dessen Nachweis in dem Darminhalt und -Entleerungen verdächtiger Krankheitsfälle die Diagnose der Cholera asiatica sicher gestellt werden kann.

2. dass sich dieser Nachweis bei den charakteristischen Culturformen des Koch'schen Kommabacillus, sowie bei der Einfachheit der Koch'schen Gelatinereinculturen auch in der Praxis ausführen lässt [1]) und dass jeder der Herren, welcher an dem 10tägigen Cursus im K. Gesundheitsamte Theil genommen hat, im Stande sein wird, dasselbe in zweifelhaften Krankheitsfällen praktisch verwerthen zu können. Freilich darf man nicht erwarten, sofort bei der ersten Untersuchung eine sichere Diagnose zu gewinnen, da die Culturen eine gewisse Zeit zu ihrer Entwicklung gebrauchen. Dagegen wird sich mit Hülfe dieser Methode nach 24, resp. 48 Stunden jeder diagnostische Zweifel über die Natur solcher verdächtiger Fälle beseitigen lassen.

---

1) Wenn Klebs und Ceci neuerdings die Möglichkeit bezweifeln — vergl. Ref. i. d. Deutschen med. Wochenschrift 1884, No. 49 — aus dem Darminhalt bei geringem Gehalt desselben an Kommabacillen Reinculturen der letzteren darstellen zu können, so wird man zu der Annahme gedrängt, dass auch diesen beiden Forschern das volle Verständniss der Koch'schen Reinculturen auf festem Nährboden abgeht.

Schliesslich habe ich endlich zu bemerken, dass am letzten Tage des Cursus, am 15. November Nachmittags, Herr Stabsarzt Dr. Gaffky in eingehender Weise die beim eventuellen Ausbruch der Cholera zu treffenden Schutz- und Desinfectionsmaassregeln besprach. Ein am Abend desselben Tages stattgefundenes zwangloses Zusammensein der absolvirten Curstheilnehmer und der bereits eingetroffenen Theilnehmer an einem sofort wieder beginnenden neuen Cursus mit Herrn Geh. Reg.-Rath Dr. Koch und seinen eingangs genannten Herren Hülfsarbeitern bildete den Abschluss einer für uns alle zwar arbeitsreichen, aber geistig hochanregenden, unvergesslichen Lehrzeit!

Ich kann meine Mittheilungen nicht schliessen, ohne auch an dieser Stelle Herrn Geh. Reg.-Rath Dr. Koch und seinen Mitarbeitern, den Herren DDr. Gaffky, Gärtner, Plagge, Weisser, Paak und Frank, nochmals meinen wärmsten Dank für ihre Mühen und die Bereitwilligkeit auszusprechen, mit der sie allen unseren Wünschen gerecht zu werden suchten. —

Druck von J. B. Hirschfeld in Leipzig.